

# Presenza di tracheofusariosi su *Rudbeckia fulgida* in Italia

Giovanna Gilardi\* - Slavica Matic\* - Maria Lodovica Gullino\*,\*\* - Angelo Garibaldi\*

\*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale (AGROINNOVA), Università di Torino, Grugliasco (TO).

\*\*DiSAFA, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO).

## Riassunto

Alla fine dell'estate 2016, in un giardino privato localizzato in provincia di Biella, su numerose piante di *Rudbeckia fulgida* allevate in bordura mista e in vaso, comparivano gravi sintomi di avvizzimento. Il fungo agente delle alterazioni veniva isolato dai tessuti infetti e classificato come *Fusarium oxysporum* in base all'osservazione del micelio cresciuto *in vitro*, delle caratteristiche di conidi e tramite l'analisi del gene Elongation Factor 1 $\alpha$  (TEF). In questa nota vengono descritti i sintomi dell'alterazione e le osservazioni effettuate al microscopio ottico del fungo agente di tracheofusariosi osservato per la prima volta su *R. fulgida* in Italia e nel mondo.

**Parole chiave:** piante ornamentali; *Fusarium oxysporum*; Asteracee.

## Summary

### First report of *Fusarium* wilt on orange coneflower (*Rudbeckia fulgida*) in Northern Italy

At the end of the summer 2016, in a garden located in Biella province (Northern Italy), symptoms of vascular wilt were observed on plants of *Rudbeckia fulgida* growing in a mixed border and in pots. The fungus causal agent of the disease was isolated from infected plants and was identified as *Fusarium oxysporum* based on the characteristics of mycelium and conidia grown *in vitro*. The identification was confirmed by the Elongation Factor 1 $\alpha$  (TEF) carried out on a single monoconidial isolate. Symptoms observed on infected hosts and morphological characteristics are reported. This is the first report of *Fusarium oxysporum* on *R. fulgida* in Italy as well as in the World.

Key words: ornamental plants; *Fusarium* wilt; *Fusarium oxysporum*; Asteracee.

## Introduzione

*Rudbeckia fulgida*, specie erbacea delle Asteraceae, è coltivata in giardini esposti in pieno sole dove produce per tutta l'estate vivaci infiorescenze di color giallo molto intenso. Tale specie ha un portamento eretto con steli ramificati con infiorescenze tipiche delle Asteraceae con un disco scuro centrale e ligule giallo oro piuttosto grandi. In questa nota viene descritta una nuova alterazione che ha interessato numerose piante di *R. fulgida* coltivate in un giardino privato localizzato in provincia di Biella.

## Sintomi riscontrati ed identificazione del patogeno

Alla fine dell'estate 2016, circa 30 piante di *R. fulgida*



Figura 1 – Sintomi di tracheofusariosi causata da *Fusarium oxysporum* su piante di *Rudbeckia fulgida* in un giardino in provincia di Biella.  
Figure 1 - Symptoms of *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* on *Rudbeckia fulgida* grown in a garden in Biella province.

coltivate in una bordura e in alcuni vasi all'interno di un giardino privato localizzato in Valle Cervo a 850 m slm, presentavano sintomi di appassimento, seguito da graduale avvizzimento e dalla morte. I sintomi osservati consistevano in clorosi, ingiallimenti e stentato sviluppo di parte della chioma delle piante (Fig. 1), le cui foglie basali e gli steli avvizzivano e disseccavano unilateralmente (Fig. 2). Sezionando longitudinalmente le radici e gli steli i tessuti vascolari apparivano imbruniti al colletto e nella parte basale dei fusti (Fig. 3). Alcune piante mostranti le alterazioni descritte sono state campionate a partire dal mese di agosto e trasferite in laboratorio dove venivano effettuati gli isolamenti. I frammenti di tessuto infetto ottenuto dai vasi imbruniti delle radici e degli steli venivano disinfettati in una soluzione di ipoclorito di sodio (1%) e abbondantemente lavati in acqua sterile. Successivamente



Figura 4 – Sintomi di tracheofusariosi su piante di *Rudbeckia fulgida* artificialmente inoculate nel corso delle prove di patogenicità.

Figure 4 – Symptoms of *Fusarium* wilt on *Rudbeckia fulgida* during the pathogenicity test under artificial inoculations.

i frammenti venivano disposti su terreno di coltura PDA (Potato Dextrose Agar) e su selettivo per *Fusarium* Komada. Dagli isolamenti, mantenuti in cella climatica alla temperatura costante di 23°C ( $\pm 1$ ), si sviluppavano le colonie di un fungo dapprima biancastre, successivamente viranti al rosa.

Su PDA, il fungo generava corte monofialidi con numerosi microconidi unicellulari, da ovali a ellittici, talvolta reniformi, con dimensioni di 5,2-12,1  $\times$  2,6-4,1 (media: 10,4  $\times$  3,4)  $\mu$ m. Coltivato su CLA (Carnation Leaf-Piece Agar) (Fisher *et al.*, 1982), dopo 17 giorni di accrescimento, l'isolato IT22 produceva sporodochi di colore arancione pallido che liberavano macroconidi leggermente falciformi, con 3 setti. Le loro dimensioni erano di 23,1-33,9  $\times$  2,9-4,5  $\mu$ m. Sul medesimo substrato, il fungo formava numerose clamidospore con parete ruvida, per lo più singole, a volte disposte in coppie o a gruppi, sia terminali che intercalari, con diametri di 7,1-9,6  $\mu$ m. Le caratteristiche morfologiche descritte consentivano di identificare come *Fusarium oxysporum* il fungo isolato da *R. fulgida* (Leslie e Summerell, 2006).

Il DNA estratto da un isolato monoconidico (IT22) era usato per una reazione di PCR utilizzando i primer EF1/EF2 (O'Donnell *et al.*, 1998), in grado di amplificare il gene che codifica il fattore di allungamento della trascrizione 1 $\alpha$  (TEF). Il prodotto dell'amplificazione ottenuta veniva sequenziato direttamente, ottenendo una sequenza di 685 paia di basi (GenBank accession N. KY563701). Quest'ultima, analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) consentiva di confermare il 100% di identità del fungo isolato da *R. fulgida* con *F. oxysporum* (GenBank Accession N. JF740855.1).

#### Inoculazione artificiale

Nove piante sane di *R. fulgida* nate da seme, allevate in vasetti contenenti circa un litro di terriccio disinfestato a vapore, venivano inoculate artificialmente per immersione delle radici in una sospensione conidica alla concentrazione di 10<sup>6</sup> conidi/ml ottenuta dalla propagazione del fungo in



Figura 3 – Imbrunimento dei vasi legnosi di piante di *Rudbeckia fulgida* inoculate con *Fusarium oxysporum*.

Figure 3 – Browning of the vascular system of *Rudbeckia fulgida* plants artificially inoculated with *F. oxysporum*.

Potato dextrose broth (Sigma) mantenuto in agitazione per 10 giorni. Tre piante non inoculate venivano utilizzate in qualità di testimoni. Tutte le piante venivano allevate in serra riscaldata, alla temperatura variabile da 24 a 26°C. Circa 20 giorni dopo l'inoculazione, i primi sintomi di malattia simili a quelli osservati in giardino apparivano solamente sulle piante inoculate (Fig. 4); da queste era possibile reisolare lo stesso fungo inoculato, soddisfacendo così i postulati di Koch.

#### Conclusioni

In bibliografia scientifica non sono riportate segnalazioni di tracheofusariosi su *R. fulgida* mentre è nota la presenza di tracheovorticilliosi causata da *Verticillium dahliae* e *V. albo-atrum* su specie ospiti afferenti al genere *Rudbeckia* (Garibaldi *et al.*, 2008; Leski, 1974). Alfieri *et al.* (1994) hanno riferito che un *Fusarium* spp. è stato isolato da *Rudbeckia hirta* in Florida. Ulteriori studi sono stati condotti da Marois e Norcini (2003) che hanno isolato un *Fusarium oxysporum* da piante spontanee di *R. hirta* evidenziando anche il ruolo di possibili contaminazioni dei semi sulla manifestazione dei sintomi. Eaker (1997) ha invece riportato un *F. oxysporum* da *Rudbeckia* spp. in Georgia, con sintomi ascrivibili a marciume basale. Entrambi questi isolati provenivano da laboratori diagnostici statali.

Sulla base dei riscontri bibliografici, è dunque questa la prima segnalazione di avvizzimenti causati da *F. oxysporum*



riscontrato su *R. fulgida* in Italia e nel mondo (Farr e Rossman, 2017).

Occorrerà approfondire l'epidemiologia di questo parassita che, come emerso nel corso delle prove di patogenicità, risulta favorito, come le altre fusariosi, da temperature elevate.

Poiché *F. oxysporum* è stato riscontrato raramente sul genere *Rudbeckia*, sarà opportuno identificare lo spettro di ospiti dei nostri isolati e la *forma specialis* di appartenenza sia con tecniche molecolari, sia con saggi di patogenicità su diverse specie e generi appartenenti alle Asteracee.

La prevenzione di questo parassita acquista un ruolo fondamentale soprattutto quando questa specie viene utilizzata in giardini pubblici, laddove l'uso di agrofarmaci è fortemente limitata. Sarà inoltre importante valutare la sanità del materiale di propagazione che spesso rappresenta un mezzo comune di diffusione di diversi agenti di tracheofusariosi (Gullino *et al.*, 2012).

### Ringraziamenti

Lavoro svolto nell'ambito del progetto "Effective Management of Pests and Harmful Alien Species - Integrated Solutions" (EMPHASIS), realizzato con il contributo del programma di Ricerca e Innovazione dell'Unione Europea Horizon 2020 (Contratto N. 634179).

### Lavori citati

Alfieri S. A., Langdon K. R., Kimbrough J. W., Wehlburg C. (1994) - Diseases and disorders of plants in Florida. Division of Plant Industry, Gainesville, Florida, Bulletin No .14.  
Altschul S. F., Madden T. L., Schaffer A. A., Zhang Z., Miller W., Lipman D. J. (1997) – Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programme. Nucleic Acids Research, 25, 3389-3402.  
Eaker T. (1997) - Homeowner IPM Clinic Report. Univ. Ga. 4 Sept. 2002, <[http:// www.ces.uga.edu/agriculture/plantpath/docs/IPMClinic/rptaug97.html](http://www.ces.uga.edu/agriculture/plantpath/docs/IPMClinic/rptaug97.html)>.  
Farr D. F., Rossman A. Y. (2017) - Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved February 1, 2017, from <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabase>.



Figura 4 – Riduzioni di sviluppo di *Rudbeckia fulgida* causata da *Fusarium oxysporum*.

Figure 4 - Growth reduction of *Rudbeckia fulgida* caused by *Fusarium oxysporum*.

Fisher N. L., Burgess L. W., Toussoun T. A., Nelson P. E. (1982) - Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. Phytopathology, 72, 151-153.  
Garibaldi A., Bertetti D., Gullino M.L. (2008) - First Report of Verticillium wilt Caused by *Verticillium dahliae* on *Rudbeckia fulgida* (Orange Coneflower) in Italy. Plant Disease, 92, 1367.

Gullino M. L., Katan J., Garibaldi A. (2012) - The genus *Fusarium* and the species that affect greenhouse vegetables and ornamentals. In: Fusarium wilts of greenhouse vegetable and ornamental crops (Gullino M. L., Katan J., Garibaldi A. coord.), APS Press, St. Paul, MN, US, 5-9.

Leski B. (1974) – Investigations on Verticillium wilt of strawberry (*Verticillium dahliae* Kleb. and *V. albo-atrum* Reinke & Berth.). Roczniki Nauk Rolniczych, E, 4, 2, 253-269.

Leslie J. F., Summerell B. A. (2006) – The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Professional, Ames, Iowa, USA, 388 pp.

Marois J. J., Norcini J. G. (2003) – Survival of black-eyed susan from different regional seed sources under low and high input systems. HortTechnology, 13, 161-165.